Aus dem Physiologischen Institut der Universität Basel
(Direktor: Professor Dr. F. Verzár)

Über den Einfluß der Kastration auf den Glykogen- und Wassergehalt der akzessorischen Sexualorgane bei männlichen weißen Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

VICTOR OTT

aus

Zürich

Basel 1940

Verlag Otto Fritz Knobel, Dornach

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt

auf Antrag von Herrn Professor Dr. F. Verzár

Tag der Promotion: 5. November 1940

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Seit Tiere kastriert werden, ist bekannt, daß durch diesen Eingriff bedeutende körperliche Veränderungen entstehen: in Anwuchs und Energie unterscheidet sich das kastrierte Tier vom normalen, und besonders auffällig ist die Entwicklung der sogenannten sekundären Geschlechtsmerkmale gestört. Eines der bekanntesten Beispiele hierfür sind die Veränderungen des Hahnenkammes, der beim kastrierten Tier klein und unscheinbar ist. Ein anderes charakteristisches Beispiel sind die Veränderungen, die an Samenblasen und Prostata von Kastraten zu beobachten sind. Bei juvenil kastrierten Tieren bleiben diese „akzessorischen Sexualorgane" klein, bei Spätkastraten atrophieren sie. Durch Zufuhr von Sexualhormon in geeigneten Mengen kann beim kastrierten Tier eine regelrechte Entwicklung dieser Organe hervorgerufen werden.

Als besonders brauchbares Objekt für Untersuchungen über diese Veränderungen erwiesen sich die kleinen Nager, besonders die Ratte. Die quantitativen Verhältnisse dieser morphologischen Veränderungen an den akzessorischen Sexualorganen kastrierter Ratten sind seit den grundlegenden Arbeiten von *Callow* und *Deanesly* (1) gut bekannt; die Größenveränderungen dieser Organe sind in Korrelation zu den endokrinen Veränderungen durch Kastration, sowie durch Zufuhr des fehlenden Sexualhormones bei Kastraten auf parenteralem Wege so regelmäßig, daß sie heute unter anderem zur Standardisierung von Sexualhormonpräparaten dienen können.

Im Gegensatz zu den morphologischen bezw. rein quantitativen Verhältnissen war bisher wenig über die chemischen Grundlagen dieser Organveränderungen bekannt. Histologisch schien bei der Entwicklung der akzessorischen Sexualorgane zur reifen Größe neben Mitosenbildung und Zellproliferation eine Vergrößerung der einzelnen Zellen wesentlich zu

sein. Es lag daher nahe, an bestimmte chemische Veränderungen der Gewebe zu denken. Bloße Änderungen des Wassergehaltes, welche schon aus dem makroskopischen Befund der Organe zu schließen waren, konnten zur Erklärung nicht genügen.

Angaben über die chemische Zusammensetzung der männlichen sekundären Sexualorgane lassen sich nicht zahlreich finden.

Berdnikoff und *Champy* (2) fanden im Hahnenkamm einen höheren Wasser-, Lipoid- und Glykoproteidgehalt als im Kapaunenkamm.

Was den Stoffwechsel dieser Organe betrifft, so fanden *Fleischmann* und *Kann* (3) ebenso wie *Aschheim* und *Gesenius* (4) eine Atmungssteigerung der Samenblasen infantiler Tiere in vitro, wenn man auf sie das geschlechtsspezifische Sexualhormon einwirken läßt.

Zahlreiche Arbeiten der letzten Jahre befassen sich aber mit den Wirkungen der Sexualhormone auf den Stoffwechsel im Allgemeinen und besonders auf den Kohlehydratstoffwechsel. Allerdings lauten die Angaben zum Teil widersprechend. Es soll daher hier ein kurzer Überblick über diese verschiedenen Forschungsergebnisse gegeben werden.

Über allgemeinere Stoffwechselwirkungen der Sexualhormone liegen verhältnismäßig wenige Berichte vor. So erzielte *Galli* (5) (1938) durch Injektionen von Testosteronpropionat bei normalen Menschen eine Abschwächung der spezifisch-dynamischen Wirkung der Nährstoffe und führte diesen Effekt auf eine Hemmung der Hypophyse und in zweiter Linie der Thyreoidea durch das Keimdrüsenhormon zurück.

Kochakian und *Murlin* (6, 7) (1936, 1937) fanden, daß durch Injektionen von männlichem Sexualhormon bei kastrierten Hunden die Stickstoffausscheidung gesenkt werde, d. h. daß eine Stickstoffretention eintrete, während der Gesamtenergiewechsel nicht beeinflußt wird.

Lee (8) stellte dann (1938) fest, daß es bei Kastraten unter Behandlung mit Sexualhormon zu einer erhöhten Fettinfiltration der Organe kommt, während der Blut-Reststickstoff (9)

sich nicht von dem normaler Tiere unterscheidet, allerdings im Hunger weniger schwankt. Auch ist die Gewichtsabnahme von hungernden Kastraten nach *Lee* geringer, die Tiere bleiben länger am Leben. Wasser- und NaCl-gehalt des Blutes unterscheiden sich nicht wesentlich von dem normaler Tiere.

Die Untersuchungen über die Kohlehydrat-Stoffwechselwirkung der Sexualhormone beziehen sich im Wesentlichen auf den Glykogengehalt der Organe und den Blutzucker.

Nezi (10) fand 1934 bei Ochsen den Glykogengehalt von Muskeln und Leber wesentlich geringer als bei Stieren.

Del Zoppo (11) berichtete 1935 über ein Absinken des Leberglykogens bei Kaninchen 8—10 Tage nach der Kastration auf 80 %, des Herzmuskelglykogens auf etwa 12 % des Normalwertes. Er sah die Erklärung dafür in einer Steigerung der Sympathicuserregung nach Kastration.

Schumann (12) beschrieb 1939, daß bei kastrierten weißen männlichen Ratten Phosphagen- und Glykogengehalt des Herzmuskels bedeutend verringert ist, während er nach Testosteronpropionatbehandlung wieder nahezu normal, der Glykogengehalt sogar übernormal wird. Ebenso fand er (13), daß der Glykogengehalt der Muskeln kastrierter Tiere verringert ist und nach Testosteronbehandlung wieder normale Werte erreicht. Den Mechanismus dieser Kohlehydratstoffwechseländerung hält er für komplex, vielleicht gehe er auf dem Umweg über andere endokrine Drüsen. Der Blutzucker wurde bei den Kastraten nicht erhöht befunden. *Parhon* und *Cahane* (14) (1938) erzielten im Gegensatz zu den Befunden von *del Zoppo, Nezi* und dem folgenden Autor eine Abnahme des Leberglykogens durch Injektionen von männlichem Sexualhormon.

Auch im weiblichen Geschlechtsapparat wurden Beziehungen des Glykogenbestandes zu den Sexualhormonen gefunden. So stellte im Anschluß an die schon 1911 von *Aschheim* und *Wegelin* gemachte Entdeckung, daß das Auftreten von Glykogen in der menschlichen Uterusschleimhaut ein charakteristisches Merkmal der praemenstruellen bzw. praegraviden Phase ist, *Müller* (15) 1936 fest, daß auch im künstlich durch parenterale Gaben von Corpus luteum-Hormon im

Anschluß an Follikulinbehandlung zur praemenstruellen Umwandlung gebrachten Uterus kastrierter und unkastrierter Rattenweibchen konstant Glykogen nachgewiesen werden kann, ebenso wie auch im übrigen Körper eine Glykogenspeicherung eintritt.

Herrnberger und *Horstmann* (16) (1939) sahen, daß im kindlichen, normalerweise sozusagen glykogenfreien Vaginalepithel nach Follikelhormonverabreichung Glykogeneinlagerung auftritt.

Lehwirt (17) (1935) beschrieb eine Abflachung der Blutzucker-Belastungskurven nach Follikelhormongaben.

Hayashi (18) (1938) fand bei kastrierten Kaninchen den Nüchternblutzucker nicht beeinflußt, die Zuckerassimilation etwas beeinträchtigt und die Ausscheidungsschwelle erhöht.

Cornil und *Rosanoff* (19) (1938) fanden, daß i. v. Injektion von Testosteron bei Hunden mit vorher bereits erhöhtem Blutzuckerspiegel eine beträchtliche Steigerung, bei Tieren mit normalem Blutzucker dagegen eine Senkung des Blutzuckers hervorruft, wobei auch die Dosis des Hormons eine Rolle für die Richtung des Effektes spielt.

Die Wirkungen, welche *Zunz* und *la Barre* (20) (1938) bei Hunden nach Injektion von Sexualhormonen sahen, nämlich eine Steigerung des Blutzuckers, aber eine Senkung, wenn vor der Hormoninjektion die Nebennierenvenen unterbunden waren, erklärten sie durch Rückwirkungen auf den Hypophysenvorderlappen, da keine Wirkung bei hypophysektomierten Tieren eintrat. Da sie später (21) sahen (1939), daß auch nach Durchschneidung der Splanchnici Hyperglykämie eintritt, wurde die Erklärung als direkte oder indirekte hormonale Wirkung des Hypophysenvorderlappens auf die Nebennieren noch gestützt.

Veil und *Lippross* (22) (1938) sahen in einzelnen Fällen von Diabetes mellitus eine Senkung des Blutzuckers nach Behandlung mit Sexualhormon, während bei Stoffwechselgesunden keine Wirkung auf den Blutzucker festgestellt werden konnte.

Auch *Ventura* (23) (1939) fand, daß Testosteron bei Zuckerkranken den Blutzucker zu senken vermag.

Fichera (24) (1939) erzielte dagegen bei Kaninchen durch Testosteroninjektionen eine Blutzuckersteigerung, der ein starker Schwund des Leberglykogens parallel ging.

De Gennaro und *Vasta* (25) (1939) erzielten bei weiblichen Kaninchen durch Follikulininjektionen ebenfalls Blutzuckersteigerungen, allerdings auch Hypoglykämie bei sehr hohen Dosen.

Befunde wie der von *Brolin* (26) (1940), daß bei kastrierten Rattenmännchen die Hypophysengröße deutlich zunimmt und zwar ausschließlich auf Kosten des Vorderlappens, bilden eine morphologische Stütze für die Erklärungsversuche der meisten Forscher, die sich mit den Wirkungen der Sexualhormone auf den Kohlehydratstoffwechsel befaßt haben. So sieht auch *Schoene* (27) (1940) die Erklärung dafür, daß die Zuckerbelastungskurve beim Menschen durch Testosteronpropionatbehandlung, ebenso wie durch Oestradiolbenzoat, deutlich gesenkt wird, in einer Hemmung der Produktion der Hypophysenvorderlappenhormone; so werde unspezifisch die Produktion des diabetogenen resp. kontrainsulären Wirkstoffes des Hypophysenvorderlappens gehemmt. Die Wirkungen der Sexualhormone auf den Kohlehydratstoffwechsel wären demnach als sekundäre aufzufassen und vollzögen sich auf dem hormonalen Umwege über die Hypophyse.

Die Kenntnisse über die Wirkung des Hypophysenvorderlappens (HVL.) auf den Kohlehydratstoffwechsel verdanken wir nach den grundlegenden Veröffentlichungen von *Houssay* und Mitarbeitern (28) (1932) besonders den Arbeiten von *Lucke* und seinen Mitarbeitern und von *Anselmino* und *Hoffmann*.

Lucke und Mitarbeitern (29) (1933) gelang der Nachweis eines Wirkstoffes in Hypophysenvorderlappenextrakten, der bei Mensch wie Tier eine Hyperglykämie erzeugt und die Insulinwirkung aufzuheben vermag, ohne daß dabei die Hypophyse erhalten sein muß. Pankreatektomierte Tiere sind viel empfindlicher als normale auf diesen „kontrainsulären" Wirkstoff, während Hypophysektomie nach Pankreatektomie Tod in Hypoglykämie bewirkt (30). Nebennierendenervation hebt

die Wirkung sofort auf, ebenso die doppelseitige Adrenalektomie (31). Der Weg zum Erfolgsorgan, den Nebennieren, muß ein nervöser sein, was der Erfolg der Denervation der Nebennieren beweist (32). Der Wirkstoff wird von der Hypophyse direkt in den Liquor abgegeben und wirkt hier hormonal auf das Zuckerzentrum des Hirnstammes (33, 34); durch Hirnstammnarkose wird der Erfolg aufgehoben (35). Daß der Wirkstoff die Blut-Liquorschranke zu überschreiten vermag, konnte nachgewiesen werden (36). Als Quelle für den gesteigerten Blutzucker wurde das Leberglykogen nachgewiesen, das nach Präphysoninjektion sehr stark abnimmt (37), ebenso wie die Erhöhung der Blutmilchsäure auf eine Wirkung auf das Muskelglykogen schließen läßt. Der Reiz zur Ausschüttung des Wirkstoffes ist die Blutzuckererniedrigung, nicht Insulin (38). Merkwürdigerweise provoziert aber auch abnorm hoher Blutzuckergehalt Hormonausschüttung, vielleicht als Reizwirkung der gesteigerten Pankreasfunktion. Hypoglykämie wirkt nicht als Reiz zur Hormonausschüttung auf die Hypophyse, wenn der linke Vagus durchschnitten oder durch Atropin ausgeschaltet ist; der Reiz wird also wohl in der Bauchhöhle, vielleicht von der Leber oder dem Pankreas, perzipiert und auf nervösem Weg zur Hypophyse weitergeleitet (39, 40). Auch eine durch Phlorrhizindiabetes hervorgerufene Hypoglykämie bewirkt Hormonausschüttung.

Lucke hält den „kontrainsulären HVL.-Wirkstoff" für identisch mit der diabeteserregenden Substanz des HVL. nach *Houssay* (41), und denkt sich seine Gesamtfunktion so (42) (1937), daß der sinkende Blutzucker auf ein perzipierendes Organ in der Bauchhöhle als Reiz wirkt, daß dieser Reiz unter Vermittlung des Zwischenhirns vom Vagus der Hypophyse übermittelt wird, welche ihren Wirkstoff in den Liquor ausschüttet. Dadurch wird das Zuckerzentrum erregt, auf nervösem Weg (über den Sympathicus) das Nebennierenmark zur Adrenalinproduktion angeregt und dadurch das Leberglykogen mobilisiert. Der HVL. ist also das übergeordnete hormonale Zentrum für die Nebennieren, die nicht selbständig arbeiten.

Ebenso stellten *Anselmino* und *Hoffmann* (43) (1934) einen Wirkstoff des HVL. fest, der normalerweise nach Kohle-

hydratbelastung im Serum nachweisbar ist und das Leberglykogen von Ratten senkt, und der im Serum von Diabetikern in hoher Konzentration nachgewiesen werden kann (44). Sie fanden dann 1935 (45), daß Gesamtextrakte von HVL. bei längerer Verabreichung beim gesunden Hund protrahierte Blutzuckersteigerung hervorrufen, und konnten durch Ultrafiltration der Gesamtextrakte bei verschiedenem pH eine blutzuckersteigernde und eine blutzuckersenkende (pankreatrope) Fraktion darstellen. Sie hielten die blutzuckersteigernde Fraktion nicht für identisch mit der von *Houssay* und *Lucke* beschriebenen. Durch Zuckerbelastung wird eine Ausschüttung dieses Kohlehydratstoffwechselhormones bewirkt, Insulin dagegen hemmt sie (46, 47).

Singer und *Taubenhaus* (48) (1937) bezweifelten diese Ergebnisse von *Anselmino* und *Hoffmann,* indem sie nachwiesen, daß der Glykogengehalt normaler Ratten außerordentlich stark schwankt und behaupteten, daß die nach den Angaben von *Anselmino* erzielbaren Glykogenverminderungen in Rattenlebern innerhalb der natürlichen Schwankungsbreite liegen.

Merten (49) (1939) stellte aber fest, daß auch nach Berücksichtigung der großen Schwankungen des Leberglykogengehaltes bei Ratten durch Injektion von Ultrafiltraten des HVL. das Glykogen um 40—50 % gesenkt wird, und daß die Angaben von *Anselmino* und *Hoffmann* zu bestätigen sind.

Auch *Loubatières* (50) (1939) sah nach längerer Injektion von Hypophysenextrakt bei einem Hund Ansteigen des Blutzuckers und Glykosurie, allerdings nicht die schweren Allgemeinsymptome wie beim Diabetes des pankreatektomierten Tieres.

Ein weiterer Hinweis auf die Beziehungen der Sexualhormone zum Kohlehydratstoffwechsel ergibt sich aus ihrer chemischen Verwandtschaft mit dem Wirkstoff der Nebennierenrinde und aus den engen Wechselbeziehungen zwischen Keimdrüsen und Nebennieren.

Daß das Nebennierenrindenhormon Glykogensynthese, besonders in der Leber, bewirkt, wurde zuerst (1934) von *Britton* und *Silvette* (51) festgestellt und in den folgenden

Jahren in vielen Untersuchungen bei den verschiedensten Tieren bestätigt.

G. T. Evans berichtete im gleichen Jahr, daß bei nebennierenlosen Ratten, die sich hungernd in Kammern mit niedrigem Sauerstoffdruck befanden, der Glykogengehalt der Leber nicht wie bei normalen Tieren zunahm, und daß gut gefütterte Tiere unter denselben Verhältnissen ihren Leberglykogengehalt nicht behielten, wenn sie adrenalektomiert waren (52).

Thaddea (53) konnte dann 1935 auch zeigen, daß das Nebennierenrindenhormon die Synthese von Glykogen in der Leber und seine Resynthese aus Milchsäure ermöglicht und die Blutzuckerverwertung sicherstellt, und daß die Unfähigkeit zur Glykogensynthese ebenso wie die Blutzuckersenkung beim nebennierenlosen Tier durch Rindenextrakt beseitigt werden kann.

Zu einem identischen Resultat kamen *Anselmino, Hoffmann* und *Rhoden* (54) (1936), und wiesen nach, daß das Nebennierenrindenhormon ein Antagonist des von ihnen beschriebenen Kohlehydratstoffwechselhormones des HVL. ist.

Fitz Gerald und *Verzár* (55) (1938) zeigten dann, daß der von *Fisher, Russell* und *Cori* (56) (1936) beschriebene enorme Schwund des Glykogens in Leber und Muskulatur hungernder hypophysektomierter Tiere durch eine Insuffizienz der Nebennierenrinde bedingt ist und durch Injektion von Nebennierenrindenhormon beseitigt werden kann.

Wie es schon die nahe verwandte chemische Konstitution von Sexual- und Nebennierenrindenhormon wahrscheinlich macht, wurden deutliche endokrine Rückwirkungen der Keimdrüsen und Nebennieren aufeinander festgestellt.

So fand *Thaddea* (57, 58) (1935), daß Störungen der Hormonproduktion der Nebennierenrinde schwere Strukturveränderungen in den Ovarien hervorrufen, indem die Ovarialfunktion vom Nebennierenrindenhormon auf dem Wege über den HVL. beeinflußt werde.

Schiller (59) (1935) stellte fest, daß nach einzeitiger Entfernung beider Nebennieren samt allem akzessorischen Nebennierengewebe bei der Ratte bei beiden Geschlechtern sofortiges Sistieren aller Geschlechtsfunktionen eintritt; er glaubte

allerdings, durch Adrenalin die Sexualfunktionen wiederherstellen zu können, hielt also das Nebennieren m a r k für entscheidend.

Auch *Cramer* und *Horning* (60) (1937) hielten die Beziehung des Sexualhormons zum Nebennierenmark für wichtig, indem sie nachwiesen, daß bei Nichtvorhandensein des männlichen Sexualhormones (bei Kastraten und jungen weiblichen Tieren) die adrenalinhaltigen Nebennierenmarkzellen stark verringert sind, daß also die Adrenalinproduktion bei Fehlen des männlichen Sexualhormones gehemmt ist.

Was Ähnlichkeit der Wirkung von Nebennierenrindenhormon mit der von Sexualhormon betrifft, so konnte *Winter* (61) (1934) bei Kaninchen durch Injektionen von Nebennierenrindenpräparaten Vergrößerung des Uterus und der Brustdrüse erzielen.

Kleiner, Weisman und *Mishkind* (62) (1937) fanden ähnliche Wirkungen gereinigter Nebennierenrindenextrakte wie von Androsteron und Testosteron auf den Eileiter von Rhodeus amarus.

Gersh und *Grollman* (63) schlossen dagegen (1939) aus Versuchsergebnissen an den akzessorischen Sexualorganen normaler, kastrierter, und zugleich kastrierter und adrenalektomierter Tiere, daß keinerlei Wirkung der Nebennierenrinde auf die männlichen sekundären Geschlechtsmerkmale zu erkennen sei.

Wenn sich auch die Ergebnisse der zitierten Forscher teilweise widersprechen, scheint doch ein Zusammenhang zwischen den Wirkstoffen der Keimdrüsen und dem Kohlehydratstoffwechsel unzweifelhaft. Da die Auswirkungen der Sexualhormone sich an den akzessorischen Sexualorganen so besonders eindrucksvoll manifestieren, sollte daher untersucht werden, ob etwa Änderungen des Kohlehydratstoffwechsels bei kastrierten Tieren gerade an diesen Organen nachgewiesen werden könnten. Da das Glykogen das am ehesten faßbare und wichtigste Substrat des Kohlehydratstoffwechsels der Organe ist, konnte sich die Untersuchung auf die B e s t i m m u n g des G l y k o g e n - und des W a s s e r g e h a l t e s der A d n e x o r g a n e beschränken.

Methodik.

Es wurden die akzessorischen Sexualorgane (Samenblasen und Prostata, insgesamt ohne Zertrennung der einzelnen Teile) von männlichen weißen Ratten untersucht, und zwar in einer ersten Serie von normalen reifen Tieren und in einer zweiten Serie von etwa ebenso schweren Tieren, die juvenil kastriert worden waren. Die Tiere wurden mit dem üblichen Zuchtfutter aufgezogen. Vor der Untersuchung wurde allen Tieren 6 Stunden lang das Futter entzogen, um nahrungsbedingte Verschiedenheiten des Kohlehydratbestandes auszuschalten.

1. Kastration.

Die Kastration erfolgt an männlichen weißen Ratten im Gewicht von 50 bis 85 g.

Der Hautschnitt erfolgt nach Aufspannen des Tieres auf einem Brettchen, Rasieren und Jodieren der Perinealgegend, in querer Richtung in der Mitte zwischen Penis und Anus; er soll etwa 1 bis 1,5 cm lang sein. Am besten wird er mit dem Diathermiemesser gemacht. Darauf drückt man leicht auf die Unterbauchgegend, wodurch die Hoden in ihren Hüllen in die Wunde vorgedrängt werden. Nun spaltet man mit feiner Schere die äußeren Hodenhüllen in Längsrichtung, darauf läßt sich der Hoden ohne Mühe vor die Wunde ziehen. Der Nebenhoden wird nun mit Seide einfach unterbunden, der distale Nebenhodenteil mit dem daranhängenden Hoden mit dem Diathermiemesser abgetrennt und der Stumpf reponiert. Die Hautwunde wird mit zwei bis drei Knopfnähten verschlossen. Es ist wichtig, daß die Nähte eng stehen, da die Tiere sehr dazu neigen, sich nach der Operation allfällig aus der Wunde hervorragende Gewebsteile herauszuzerren, woran sie regelmäßig zugrunde gehen. Die geschlossene Wunde wird nochmals leicht jodiert und mit Kollodium bestrichen.

Obwohl dies nicht überall üblich ist, habe ich die Operation mit sterilen Instrumenten vorgenommen. Eine eingehende Händedesinfektion ist nicht nötig, wenn man nur mit den Instrumenten in die Wunde geht.

Nach der Operation ist es vorteilhaft, die Tiere für 24 Stunden in reichlich mit Watte belegten Käfigen nahe bei der Heizung stehen zu lassen.

2. Glykogenanalyse.

Die Mehrzahl der neueren Glykogenbestimmungsmethoden sind im Wesentlichen auf den grundlegenden Arbeiten *Pflüger*'s aus den Jahren 1899 bis 1905 aufgebaut. Allgemein bekannt scheint jedoch gegenwärtig nur die kurze Notiz *Pflüger*'s über eine verkürzte Methode zur Glykogenbestimmung (64) zu sein, während die langen und mühsam lesbaren Arbeiten der früheren Jahre, in denen *Pflüger* die Verhältnisse der Zersetzlichkeit des Glykogens durch schwache und starke Alkalien, sowie die Fällbarkeit durch bestimmte Alkoholkonzentrationen genau untersucht und in denen er die experimentellen Grundlagen für seine zuletzt angewandten Methoden genau angegeben hat, nicht allen Forschern, die gegenwärtig Glykogenbestimmungen ausführen, bekannt sein dürften. Es seien daher die Ergebnisse der Arbeiten *Pflüger*'s (65, 66), die er in seinem Werk über das Glykogen etc. (67) (1904/05) übersichtlich dargestellt und durch die späteren Arbeiten nicht mehr wesentlich abgeändert hat, hier kurz zusammengefaßt.

A. Zersetzlichkeit des Glykogens durch Alkalien: Glykogen wird selbst durch tagelanges Kochen mit 36 bis 60 % KOH nicht nachweislich zersetzt, während Kochen mit schwachen Alkalikonzentrationen (1 bis 2 % KOH) wenigstens in gewissen Versuchsreihen schwere Glykogenverluste ergab.

B. Gewinnung des Glykogens aus Organen: Durch längeres Kochen mit starker KOH läßt sich weit mehr Glykogen aus einem Organ darstellen als durch gewöhnliche Wasserextraktion.

C. Fällbarkeit des Glykogens durch Alkohol: aus 15 % KOH kann Glykogen schon durch $\frac{1}{2}$ Vol. 96 Vol.% Alkohol nahezu quantitativ wiedergewonnen werden, durch 1 Vol. 96 % Alkohol aber praktisch vollständig; die Zuckerbestimmungswerte nach Hydrolyse des Präcipitates sind bei der Fällung mit dem 10 fachen Volumen Alkohol nur eine Spur höher und wohl durch Fällung von Glykogendextrinen bedingt.

D. Löslichkeit des Glykogens in Alkohol: Glykogen ist nur in Alkohol, der etwas Kochsalz (resp. einen anderen Elektrolyten) enthält, ganz unlöslich.

E. Glykogenausfällung mit Alkohol aus Organlösungen: Es ist nicht statthaft, vor der Glykogenausfällung das Organeiweiß mit Eiweißfällmitteln zu entfernen, da sonst große Mengen Glykogen (bis 20 %) unauswaschbar mit dem präcipitierten Eiweiß niedergeschlagen werden. Das Prinzip, vor der Glykogenfällung das Eiweiß auszufällen, wurde schon von *Brücke* angewandt. *Pflüger* hat dann seine Fehlerhaftigkeit auch in der Modifikation dieser Methode von *R. Külz* (68) nachgewiesen.

F. Frage der Eiweißfällung aus Organlösung durch Alkohol: Hat man die zu untersuchenden Organe nach der Vorschrift von *Pflüger* 3 Stunden mit 60 % KOH erhitzt, so ist eine vorgängige Entfernung der Eiweißbestandteile gar nicht nötig, da durch langes Kochen mit konzentriertem Alkali die Eiweißstoffe so denaturiert werden, daß sie durch die in Frage kommenden Alkoholkonzentrationen praktisch nicht ausgefällt werden (dies war übrigens schon von *Claude Bernard* festgestellt worden).

Die neueren Glykogenbestimmungsmethoden lassen sich unter diesen Gesichtspunkten in zwei Gruppen einteilen, nämlich solche, die in Konsequenz der *Pflüger*'schen Ergebnisse das Glykogen direkt aus dem Kalilaugenmazerat ausfällen und solche, die vorher mit einem Eiweißfällmittel arbeiten, ja sogar die Gewebsextraktion mit einem solchen und nicht mit Alkali vornehmen.

Nur kurz sollen hier die Ergebnisse der Arbeiten von *Willstätter* und *Rohdewald* (69) erwähnt werden, da auch für Bestimmungsmethoden die Kenntnis wichtig ist, daß in den Organen Glykogen-Proteine als „Symplexe" vorkommen, wobei die Abtrennung der Proteinbestandteile nicht möglich ist, und daß lösliche und unlösliche Glykogenteile — „Lyo- und Desmo-Glykogen" — zu unterscheiden sind. Schon *Pflüger* hatte ja bei seinen sehr genauen Analysen gefunden, daß es nicht gelingt, ein absolut stickstoffreies Glykogen darzustellen, und daß durch Eiweißfällung Glykogenprotein verloren geht.

Es erhellt daraus auch, daß es keinen Sinn hat, auf Bestimmungen des Stickstoffgehaltes bei kleineren analytischen Arbeiten zu großen Wert zu legen, da wir ja nicht stets genau übersehen können, wieviel Glykogen-Protein und wieviel unerwünschte stickstoffhaltige Verunreinigung in unseren Fällungen vorhanden ist. So fand *Tsai* (70) (1937), daß bei Extraktion von Geweben mit Wasser und kalter Trichloressigsäure stets ein Rückstandglykogen verbleibt, das erst nach Zerstörung des Gewebes mit 60 % KOH zu erhalten ist (zum Teil ist dieses „Rückstandglykogen" mit dem „Desmoglykogen" von *Willstätter* identisch) und, was besonders wichtig ist (71), daß in gewissen Organen wie Herz und Niere bei der Katze, dieses Rückstandglykogen zwar absolut in geringer Menge vorkommt, relativ aber bis 80 % des Gesamtglykogens ausmacht.

Einige neuere Glykogenbestimmungsmethoden, die zur ersten Gruppe (direkte Ausfällung aus dem KOH-Mazerat) gehören, sind die von *Brand* (72) und die Methode von *G. T. Cori* (73). Letztere Autorin zeigt, daß die Wägung des (ca. 1 g großen) Organstückes in kalter KOH (ca. 1 ccm) brauchbare Resultate liefert, ferner, daß bei direkter Glykogenfällung mit maximal 70 % Alkohol die nicht vergärbaren reduzierenden Substanzen („Nicht-Zucker-Substanzen") keine wesentliche Rolle für die Mikro-Zuckeranalyse spielen, während bei Fällung mit insgesamt 80 % Alkohol spürbare Fehler durch die nicht aus Zucker bestehenden reduzierenden Verunreinigungen, die durch diese starke Alkoholkonzentration mitgefällt werden, entstehen; ferner daß die HCl-Hydrolyse 3 Stunden zu dauern hat, wie von *Pflüger* vorgeschrieben. Eine Modifikation dieser Methode stammt von *G. Evans* (74). Andere Autoren, die nach dem *Pflüger*'schen Prinzip arbeiten, sind *Hédon* und *Loubatières* (75), *Grunke, Schumann* und *Böhm* (76), *Frank* und *Förster* (77) und *Edlbacher* und *Baumann* (78).

Alle diese Methoden halten sich im Prinzip an die Angaben von *Pflüger*, nur in dem einen Punkt weichen sie teilweise (77, 78) von ihnen ab, daß die Mazeration der Gewebe in heißer KOH nicht zwei bis drei Stunden, sondern nur einige Minuten, nämlich bis zur restlosen Auflösung der Gewebe,

gemacht wird. Hier scheint es fraglich, ob in dieser kurzen Zeit die Eiweißstoffe genügend durch die konzentrierte Lauge denaturiert werden, um nicht mehr alkoholfällbar zu sein.

Aus der anderen Gruppe von Bestimmungsmethoden, die mit Eiweißfällung arbeiten, seien erwähnt die Methode von *C. L. Evans* (79) und die von *Carruthers* (80), welcher das Glykogen im Trichloressigsäureextrakt bestimmt, — wogegen aus den oben dargelegten Gründen doch starke Einwände vorzubringen sind.

Das Ergebnis der angeführten Forschungen, besonders derjenigen von *Pflüger*, scheint mir zu sein, daß für eine Glykogenbestimmung, besonders an kleinen Organmengen, nur eine Methode in Frage kommt, bei welcher das Glykogen direkt aus dem KOH-Mazerat gefällt wird. Keine der neueren Methoden, die auf diesem Prinzip beruhen, haben die Methode *Pflüger*'s wesentlich abgewandelt, und ich habe es daher vorgezogen, mich an die Vorschrift *Pflüger*'s zu halten mit der einzigen durch die geringen Organmengen bedingten Modifikation, daß überall, wo *Pflüger* den Niederschlag durch Filtration gewann, das Präcipitat durch Zentrifugieren gewonnen wurde, wie dies unten beschrieben wird.

Technik der Glykogenbestimmung an den akzessorischen Sexualorganen weißer Ratten.

Den Tieren wird 6 Stunden vor der Untersuchung das Futter entzogen. Sie werden zur Entnahme des Materials tief narkotisiert (15 mg Evipan-Natrium pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal). Dann wird das Tier auf einem Brettchen aufgespannt, ein genügend großer Längsschnitt von der Symphyse aufwärts gemacht, die Därme werden eventeriert und nach oben verlagert, so daß die Gegend von Blase und Samenblasen gut übersehbar ist. Die Harnblase wird möglichst weit vorgezogen, tief unten an ihrem Hals und von den Ureteren abgetrennt, dann werden Samenblasen und Prostata gemeinsam durch Abtrennung der Vasa deferentia frei gemacht und scharf aus ihrer Umgebung abgelöst. Sie werden dann kurz auf Fließpapier abgetupft und sofort in die kalte KOH geworfen.

Glykogenanalyse: Zur Analyse von Organquanten von 0,2 bis 1,5 g gibt man in ein breites kochfestes Zentrifugenrohr 2 ccm 60 % KOH. Im Augenblick vor der Entnahme des Organstückes wägt man das gefüllte Zentrifugenrohr auf einer Schnellwage ab, gibt dann das Gewebsstück hinein, wägt rasch wieder, bringt dann die KOH auf offener Flamme zum Sieden (Vorsicht!) und stellt dann das Rohr, verschlossen und mit Steigrohr versehen, für 3 Stunden in ein kochendes Wasserbad. Nach Abkühlen verdünnt man dann mit aq. dest. auf das 4 fache Volumen, d. h. 15 % KOH. Dann gibt man das gleiche Volumen absoluten Alkohol zu, schüttelt gut durch, erwärmt das Glas kurz in warmem Wasser, wodurch sich die unverseifbaren Lipoide, die zum Teil gefärbt sind, rasch lösen, kühlt dann sofort in kaltem Wasser wieder ab, um einen Alkoholverlust durch Verdampfung zu verhindern, und stellt nun das Rohr über Nacht in den Kühlschrank. Das Glykogen fällt in dieser Zeit in hellen Flocken aus. Am folgenden Tag wird 10 Minuten mit hoher Tourenzahl zentrifugiert, das Überstehende, in dessen oberster Schicht sich auch die Lipoide in dicken Tropfen angesammelt haben, wird vorsichtig mit nicht zu feiner Kapillare abgesaugt. Der Niederschlag wird mit 5 ccm einer Waschlösung, bestehend aus:

1 Teil KOH 15 %
2 Teile Alkohol 96 %

gewaschen, wobei er durch den Strahl der aus der Pipette ausfließenden Waschlösung gut aufgewirbelt werden soll; darauf läßt man ½ Stunde absitzen, zentrifugiert wieder, wäscht wieder mit 5 ccm 66 Vol.% Alkohol, der pro Liter 0,1 g NaCl enthält, zentrifugiert wieder, wäscht wieder mit 5 ccm absolutem Alkohol, der ebenso viel NaCl enthält. Nach Zentrifugieren und Absaugen verjagt man den verbleibenden kleinen Flüssigkeitsrest auf dem Wasserbad.

Hydrolyse des Glykogens: in die gleichen Zentrifugenrohre werden zu dem Glykogenniederschlag 10 ccm 2,2 % HCl zugegeben. Dann wird 3 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Wasserverlust wird durch Steigrohr verhindert. Das Hydrolysat wird mit Sodasaturation gegen etwas Lackmus genau neutralisiert und ein aliquoter Teil zur Zuckeranalyse verwendet. Der Glykosewert mit 0,927 multipliziert ergibt die Glykogenmenge.

Sind die zu erwartenden Zuckermengen nicht so groß, daß eine der bekannten auf Kupferoxydreduktion beruhenden Makromethoden anwendbar ist, so scheint es mir am Vorteilhaftesten, die Originalmethode von *Hagedorn* und *Jensen* (81) anzuwenden. Dies ist auch bei zu bestimmenden Zuckermengen, die über 0,385 mg liegen, leicht möglich dadurch, daß man die zu analysierende Lösung auf eine bestimmte Menge im genau geeichten Meßkolben auffüllt und mit Pipette einen bestimmten Teil davon nimmt. Es ist nur zu beachten, daß das von *Hagedorn* und *Jensen* vorgeschriebene Gesamtvolumen bei der Reduktion des Kaliumferricyanides gewahrt wird, da die Reaktion sehr empfindlich von der H-Ionenkonzentration abhängt.

Die Modifikation der Methode von *Hagedorn* und *Jensen*, welche von *Hanes* (82) und *A. Zeller* (83) angegeben wurden, können analog angewendet werden; bei der Methode von *Hanes* aber kann man dadurch große Schwierigkeiten haben, daß infolge der großen Quantitäten der Reagenzien der Farbumschlag bei der iodometrischen Titration nicht so scharf und eindeutig ist wie bei der Originalmethode, auch ist die Entfärbung oft inkonstant und es tritt nach kurzer Zeit wieder blaue Verfärbung ein; darauf hat auch *Zeller* (loc. cit.) hingewiesen. Außerdem scheint es mir besser, eine analytische Methode anzuwenden, deren Genauigkeit so allgemein anerkannt ist wie die von *Hagedorn* und *Jensen*. Die Mikromethoden mit Kupferoxydreduktion, wie sie in Amerika noch sehr beliebt sind, können nach *Hanes* (loc. cit.) nicht empfohlen werden, da die Reaktion nicht wie die Reduktion des Kaliumferricyanides irreversibel sei, sondern, wie er nachgewiesen hat, in bloßer Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration in der Flüssigkeit mehr oder weniger reversibel verlaufe und also keine konstanten Titrationsergebnisse liefern könne; die Tatsache der reversiblen Kupferoxydreduktion bildete ja schon für *Hagedorn* und *Jensen* den Grund, für eine Mikromethode Kaliumferricyanid zu wählen.

Bemerkung zur Wägetechnik: Die Wägung der offenen Gefäße mit KOH ist bezüglich Meßgenauigkeit unbedenklich. Um dies sicherzustellen, wurden Gläschen, ent-

haltend 3 ccm 60 % KOH, bei 20 ° C Zimmertemperatur, auf der Schnellwage gewogen:

1. Glas:		2. Glas:	
Anfangsgewicht:	84,8514 g	Anfangsgewicht:	82,6684 g
nach 3 Min.	84,8515 g	nach 3 Min.	82,6685 g
nach 6 Min.	84,8517 g	nach 6 Min.	82,6687 g
Zunahme in 6 Min.	0,0003 g	Zunahme in 6 Min.	0,0003 g

Die in meiner Arbeit enthaltenen Angaben über die Gewichte der Adnexorgane lassen sich nicht mit den nach den Vorschriften von *Callow* und *Deanesly* (1) bestimmten Adnexgewichten vergleichen, weil diese Autoren die Organe in *Bouin*'scher Flüssigkeit fixieren und dann getrocknet wägen. Die von mir angegebenen Zahlen haben nur unter sich vergleichbaren, relativen Wert.

Technik der Wassergehaltsbestimmung: Die Organe werden in genau gleicher Weise wie zur Glykogenbestimmung gewonnen, gewogen und dann bei 105 ° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Versuche.

Die Untersuchung des Wasser- und Glykogengehaltes der Adnexorgane von männlichen Ratten, von etwa 200 g Körpergewicht, wurde an 8 bzw. 10 normalen und 5 bzw. 6 kastrierten Tieren gemacht. Bei dem Körpergewicht von ca. 200 g sind normale Männchen bereits geschlechtsreif, obwohl sie dann noch weiter wachsen. Sie werden in unserer Zucht 300 g schwer. Hierauf beruht es, daß die Gewichte der Adnexorgane, die nach der oben angegebenen Weise bestimmt wurden, untereinander ziemliche Abweichungen zeigen. Bei den Normaltieren wurden aber nur einwandfrei reife Tiere untersucht.

Die Resultate sind in Tabelle I bis IV verzeichnet, Tab. V gibt einen Überblick über die Durchschnittswerte der Bestimmungen.

Tabelle I.

Wassergehalt der akzessorischen Sexualorgane männlicher weißer Ratten (reife Normaltiere).

Nr.	Körpergewicht g	Adnexgewicht g	Wassergehalt g	Wassergehalt %
1	190	1,1221	0,8344	74,25
2	205	1,9372	1,3955	72,10
3	195	1,5660	1,1528	73,60
4	220	1,4357	1,1082	77,20
5	185	0,8613	0,6324	73,50
6	240	1,4710	1,0798	73,50
7	220	1,2491	0,8817	70,60
8	195	0,8498	0,6362	74,90

Durchschnittlicher Wassergehalt: 73,71 %
Mittlere Abweichung: ± 1,85 %

Tabelle II.

Wassergehalt der akzessorischen Sexualorgane bei kastrierten weißen männlichen Ratten.

Nr.	Körpergewicht g	Adnexgewicht g	Wassergehalt g	Wassergehalt %
1	240	0,2618	0,0560	21,37
2	240	0,2556	0,0698	27,31
3	225	0,2706	0,0789	29,16
4	275	0,2145	0,0670	31,23
5	230	0,3325	0,1627	48,93

Durchschnittlicher Wassergehalt: 31,60 %
Mittlere Abweichung: ± 12,40 %

Tabelle III.

Glykogengehalt der akzessorischen Sexualorgane reifer normaler Rattenmännchen.

Die Trockensubstanz, der Wassergehalt und der Glykogengehalt, bezogen auf die Trockenmasse, wurden auf der Basis der Ergebnisse in Tabelle I (Wassergehalt 74 %, Trockensubstanz 26 %) berechnet.

Nr.	Körpergewicht g	Adnexgewicht g (feucht)	Wassergehalt g	Trokkensubst. g	Gesamtglykogen mg	Glykogengehalt mg % (feucht)	Glykogengehalt mg % (trocken)
1	215	0,6620	0,4899	0,1721	0,467	70,0	271,5
2	190	0,8065	0,5968	0,2097	0,532	66,0	253,5
3	190	0,9760	0,7222	0,2538	0,533	54,7	210,3
4	225	0,7091	0,5247	0,1844	0,348	49,1	188,7
5	165	0,3495	0,2586	0,0909	0,324	92,6	357,0
6	180	0,9075	0,6715	0,2360	0,421	47,2	178,5
7	210	1,2215	0,9039	0,3176	0,706	57,7	222,3
8	190	1,1945	0,8839	0,3106	0,786	65,9	252,7
9	185	0,6219	0,4599	0,1620	0,324	52,1	200,0
10	165	0,5040	0,3730	0,1310	0,441	87,4	335,5
Durchschn.		0,7953	0,5884	0,2069	0,488	64,3	247,0
Mittl. Abw.		±0,2832	±0,2095	±0,0736	±0,151	±15,4	± 59,2

Tabelle IV.

Dasselbe bei kastrierten Tieren, wie bei Tab. III bei normalen. Berechnung auf der Basis der Wassergehaltswerte in Tab. II.

Nr.	Körpergewicht g	Adnexgewicht g (feucht)	Wassergehalt g	Trockensubstanz g	Gesamtglykogen mg	Glykogengehalt mg % (feucht)	Glykogengehalt mg % (trocken)
1	220	0,2740	0,0876	0,1864	0,0556	20,3	29,8
2	300	0,1075	0,0344	0,0731	0,0371	34,5	50,7
3	245	0,3399	0,1089	0,2310	0,0325	9,7	14,1
4	275	0,5675	0,1835	0,3840	0,1001	17,6	26,1
5	220	0,3392	0,1085	0,2307	0,1135	33,5	49,1
6	185	0,1840	0,0588	0,1252	0,0811	44,0	64,4
Durchschn.		0,3022	0,0969	0,2051	0,0699	26,59	39,0
Mittl. Abw.		±0,1443	±0,0460	±0,0962	±0,0397	±12,83	±18,75

Tabelle V.

Zusammenfassung der oben verzeichneten Werte. Die Durchschnitte der Relation zwischen Substanz und Glykogengehalt sind aus den Serien der Glykogenbestimmung gezogen.

Mittelwerte von	Normaltieren	Kastraten
Adnexgewicht feucht g	0,7953 ± 0,2832 g	0,3022 ± 0,1443 g
Hiervon Wassergehalt in g	0,5884 ± 0,2095 g	0,0969 ± 0,0460 g
Trocken-substanz g	0,2069 ± 0,0736 g	0,2051 ± 0,0962 g
Gesamt-glykogen mg	0,488 ± 0,1513 mg	0,0699 ± 0,0397 mg
Glykogengehalt mg% des Feuchtgewichts	64,3 ± 15,4 mg%	26,59 ± 12,83 mg%
Glykogengehalt mg% der Trokkensubstanz	247,0 ± 59,2 mg%	39,0 ± 18,75 mg%

Diskussion.

Aus der zusammenfassenden Tabelle V geht hervor, daß bei den Kastraten der absolute Glykogengehalt in den Adnexorganen ein Siebentel des Glykogengehaltes bei den normalen Tieren ausmacht. Allerdings ist auch die absolute Größe der Adnexorgane geringer, etwa ein Drittel der normalen. Da aber auch der Wassergehalt bei den Kastraten abgenommen hat, so ist die Trockensubstanz bei den Kastraten nicht vermindert, 0,205 g gegenüber 0,207 g bei den Normaltieren Es ist also nicht nur absolut, sondern gerade auch relativ viel weniger Glykogen bei den Kastraten vorhanden; auf das Feuchtgewicht bezogen fast 3 mal, aufs Trockengewicht bezogen 6 mal weniger. Interessant ist nun, daß zwischen dem

Wassergehalt und dem Glykogengehalt der Gewebe eine weitgehende Parallele besteht: beim normalen Tier ist 6 mal soviel Wasser in den Adnexorganen vorhanden wie bei den Kastraten, nämlich 0,5884 g gegenüber 0,0969 g, und — in der gleichen Größenordnung! — ist 7 mal soviel Glykogen bei den Normaltieren wie bei den Kastraten vorhanden: 0,488 mg gegenüber 0,0699 mg.

Das legt den Gedanken nahe, daß zwischen der Zunahme des Glykogens bei der Entwicklung der Sexualadnexe und der Zunahme des Wassergehaltes dieser Organe ein enger Zusammenhang besteht, der weitere Bearbeitung verlangt.

Wenn auch die bisher bekannten Wirkungen der Sexualhormone auf den Stoffwechsel noch kein einheitliches Bild ergeben, so läßt sich auf Grund der bisherigen Forschungsergebnisse doch für das gefundene Resultat eine Erklärung suchen.

Einerseits ist bei Fehlen des Keimdrüsenwirkstoffes der Hypophysenvorderlappen nicht durch diesen Wirkstoff gehemmt und die Produktion des kohlehydratmobilisierenden, Glykogenanbau verhindernden Vorderlappenhormones ist verstärkt.

Andererseits liegt aber bei der engen konstitutionellen Verwandtschaft des männlichen Keimdrüsenwirkstoffes mit demjenigen der Nebennierenrinde die schon von *Verzár* (83, S. 235) angedeutete Auffassung besonders nahe, daß diese Stoffe in den Organen des Geschlechtsapparates eine spezifische, gezielte Einwirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel ausüben, wie das Nebennierenrindenhormon auf den Kohlehydratstoffwechsel des gesamten Organismus. Das Nebennierenrindenhormon bewirkt im Körper überall Glykogensynthese und gleichzeitig Hydratation der Zellen. Die Sexualhormone haben nach dieser Ansicht dieselbe Wirkung, aber nur selektiv auf die Zellen der Geschlechtsorgane. Der vorangehende Nachweis, daß beim Kastraten die Adnexorgane 6 mal ärmer an Wasser und 7 mal ärmer an Glykogen sind als bei Normaltieren, scheint diese Auffassung zu stützen.

Zusammenfassung.

Nach Erörterung der gegenwärtigen Kenntnisse über die komplexen Wirkungen der Keimdrüsenwirkstoffe auf den Stoffwechsel, insbesondere auf den Kohlehydratstoffwechsel, und ihrer Beziehungen zu anderen Hormonen, werden Bestimmungen des Wasser- und Glykogengehaltes der akzessorischen Sexualorgane normaler und kastrierter männlicher weißer Ratten mitgeteilt. Der Wassergehalt und der Glykogengehalt der Adnexorgane von Kastraten ist wesentlich geringer als bei Normaltieren.

Es wird ferner die Technik der Kastration, sowie der quantitativen Analyse kleiner Glykogenmengen, nach Besprechung der einschlägigen Literaturangaben, mitgeteilt.

Herrn Professor Dr. *F. Verzár* möchte ich hier für die gütige Überlassung von Arbeitsthema und Material, sowie für die freundliche Beratung und Kritik bei der Ausführung dieser Arbeit meinen besten Dank aussprechen.

Literatur.

1. *R. K. Callow* and *R. Deanesly:* Biochem. J. *29*, 1424 (1935).
2. *A. Berdnikoff* et *Ch. Champy:* C. r. Soc. Biol. Paris *116*, 515 (1934).
3. *W. Fleischmann* und *S. Kann:* Naturwiss. *1934*, 527.
4. *S. Aschheim* und *H. Gesenius:* Arch. Gynäk. *153*, 434 (1933).
5. *T. Galli:* Arch. Fisiopatologia ecc. *6*, 443 (1938).
6. *Ch. D. Kochakian* and *J. R. Murlin:* Amer. J. Physiol. *117*, 642 (1936).
7. *Ch. D. Kochakian* and *J. R. Murlin:* Endocrinology *21*, *750* (1937).
8. *H. S. Lee:* Jap. J. of Dermatol. *43*, No. 2 (Zusammenf. 53) (1938).
9. *H. S. Lee:* Jap. J. of Dermatol. *43*, No. 2 (Zusammenf. 55) (1938).
10. *S. Nezi:* Nuova vet. *12*, 253 (1934).
11. *R. Del Zoppo:* Rass. Ter. e Pat. clin. *7*, 347 (1935).
12. *H. Schumann:* Klin. Wschr. *1939 II*, 925.
13. *H. Schumann:* Klin. Wschr. *1940*, 364.
14. *C. J. Parhon* et *M. Cahane:* Bull. Sect. Endocrinol. Soc. roum. Neur. etc. *3*, *78* (1938).
15. *J. K. Müller:* Endokrinol. *17*, 36 (1936).
16. *K. Herrnberger* und *F. H. Horstmann:* Arch. Gynäk. *168*, 451 (1939).
17. *St. Lehwirt:* Zbl. Gynäk. *1935*, 78.
18. *M. Hayashi:* Fol. endocrinol. Jap. *14*, H. 3 (D. Zus. 15) (1938).
19. *L. Cornil* et *H. Rosanoff:* C. r. Soc. Biol. Paris, *129*, 983 (1938).
20. *E. Zunz* et *J. La Barre*: a) Ann. de Physiol. *14*, 634 (1938). b) C. r. Soc. Biol. Paris *129*, 22 (1938).
21. *E. Zunz* et *J. La Barre:* Arch. internat. Physiol. *48*, 405 (1939).
22. *W. H. Veil* und *O. Lippross:* Klin. Wschr. *1938 I*, 655.
23. *L. Ventura:* Giorn. Clin. med. *20*, 842 (1939).
24. *G. Fichera:* Arch. ital. Med. sper. *4*, 39 (1939).
25. *N. De Gennaro* e *N. Vasta:* Ormoni *1*, 25 (1939).
26. *S. E. Brolin:* Endokrinol. *22*, 331 (1940).
27. *G. Schoene:* Klin. Wschr. *1940*, 657.

28. *B. A. Houssay, A. Biasotti* et *C. T. Rietti:* C. r. Soc. Biol. Paris *111,* 479 (1932).
29. *H. Lucke, E. R. Heydemann* und *R. Hechler:* Z. exper. Med. *88,* 65 (1933).
30. *H. Lucke:* Verh. dtsch. Ges. inn. Med. *164 (1933).*
31. *H. Lucke, E. R. Heydemann* und *H. Hahndel:* Z. exper. Med. *91,* 483 (1933).
32. *H. Lucke, E. R. Heydemann* und *H. Hahndel:* Z. exper. Med. *91,* 492 (1933).
33. *H. Lucke* und *H. Hahndel:* Z. exper. Med. *91,* 689 (1933).
34. *H. Lucke* und *R. Werner:* Z. exper. Med. *102,* 242 (1938).
35. *H. Lucke* und *H. Hahndel:* Z. exper. Med. *91,* 696 (1933).
36. *H. Lucke* und *H. Hahndel:* Z. exper. Med. *91,* 704 (1933).
37. *H. Lucke* und *E. Kröger:* Z. exper. Med. *100,* 69 (1936).
38. *H. Lucke* und *R. Werner:* Z. exper. Med. *102,* 248 (1938).
39. *Arnold Koch:* Diss. Tübingen 1937.
40. *H. Lucke* und *A. Koch:* Z. exper. Med. *103,* 270 (1938).
41. *H. Lucke:* Z. exper. Med. *100,* 73 (1936).
42. *H. Lucke:* Verh. dtsch. Ges. inn. Med. *133, 1937.*
43. *K. J. Anselmino* und *Fr. Hoffmann: Klin.*Wschr. 1934 *II, 1048.*
44. *K. J. Anselmino* und *Fr. Hoffmann:* Z. klin. Med. *129,* 24 (1935).
45. *K. J. Anselmino* und *Fr. Hoffmann:* Naunyn - Schmiedebergs Arch. *179,* 273 (1935).
46. *K. J. Anselmino* und *Fr. Hoffmann:* Z. klin. Med. *130,* 588 (1936).
47. *K. J. Anselmino:* Endokrinol. *19,* 30 (1937).
48. *K. Singer* und *M. Taubenhaus:* Wien. Arch. inn. Med. *31,* 59 (1937).
49. *R. Merten:* Z. exper. Med. *105,* 273 (1939).
50. *A. Loubatières:* C. r. Acad. Sci. Paris *208,* 1933 (1939).
51. *S. W. Britton* and *H. Silvette:* Amer. J. Physiol. *107,* 190 (1934).
52. *G. T. Evans:* J. of biol. Chem. *105,* XXVI (1934).
53. *S. Thaddea:* Z. exper. Med. *95,* 600 (1935).
54. *K. J. Anselmino, Fr. Hoffmann* und *E. Rhoden:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. *181,* 325 (1936).
55. *O. Fitz Gerald* und *F. Verzár:* Pflügers Arch. *242,* 30 (1938).
56. *R. E. Fisher, J. A. Russell* and *C. F. Cori: J.* of biol. Chem. *115,* 627 (1936).

57. *S. Thaddea:* Z. Geburtsh. *110*, 225 (1935).
58. *S. Thaddea:* Zbl. Gynäk. *1935*, 1208.
59. *M. B. Schiller:* C. r. Soc. Biol. Paris *119*, 244 (1935).
60. *W. Cramer* and *E. S. Horning:* Lancet *1937 I*, 1330.
61. *E. W. Winter:* Z. Geburtsh. *109*, 273 (1934).
62. *J. S. Kleiner, A. J. Weisman* and *O. I. Mishkind:* Science (N.Y.) *1937 II*, 159.
63. *I. Gersh* and *A. Grollman:* Amer. J. of Physiol. *126*, 368 (1939).
64. *E. F. W. Pflüger:* Pflügers Arch. *103*, 169 (1904).
65. *E. F. W. Pflüger:* Pflügers Arch. *75*, 120 (1899).
66. *E. F. W. Pflüger:* Pflügers Arch. *76*, 543 (1899).
67. *E. F. W. Pflüger:* Das Glykogen u.s.w. Bonn 1905.
68. *R. Külz:* Z. f. Biol. Bd. *22*, 181.
69. *R. Willstaetter* und *M. Rohdewald:* Hoppe-Seylers Z. *225*, 103 (1934).
70. *Ch. Tsai:* Chin. J. Physiol. *11*, 87 (1937).
71. *Ch. Tsai:* Chin. J. Physiol. *11*, 93 (1937).
72. *Th. von Brand:* Arch. Scand. Physiol. *75*, 195 (1936).
73. *G. T. Cori:* J. of biol. Chem. *96*, 258 (1932).
74. *G. Evans:* J. of Physiol. *82*, 468 (1934).
75. *L. Hédon* et *A. Loubatières:* Bull. Soc. Chim. biol. Paris *20*, 910 (1938).
76. *W. Grunke, H. Schumann* und *H. Boehm:* Z. exper. Med. *103*, 117 (1938).
77. *N. Frank* und *J. F. Foerster:* Biochem. Z. *159*, 48 (1925).
78. *S. Edlbacher* und *W. Baumann:* Z. f. Krebsforsch. Bd. *47*, 191 (1938).
79. *C. L. Evans, Ch. Tsai* and *N. Young:* J. of Physiol. *73*, 67 (1931).
80. *A. Carruthers:* Proc. exper. Biol. and Med. *28*, 228 (1930).
81. *H. C. Hagedorn* und *B. N. Jensen:* Biochem. Z. *135*, 46 (1923).
82. *C. S. Hanes:* Biochem. J. *XXIII*, 99 (1929).
83. *A. Zeller:* Biochem. Z. *300*, 78 (1939).
84. *F. Verzár:* Die Funktion der Nebennierenrinde. Verlag B. Schwabe, Basel 1939.